

УДК 616.33-002.446:612.017.12

А. В. Васильченко³, С. Д. Никонов², Е. Р. Черных¹,
А. А. Останин¹, А. Г. Лебедев⁴

¹ Институт клинической иммунологии СО РАМН
ул. Ядринцевская, 14, Новосибирск, 630099, Россия

² Новосибирский государственный университет
ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090, Россия

³ Сахалинская областная больница
просп. Мира, 430, Южно-Сахалинск, 693013, Россия

⁴ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН
ул. Тимакова, 2, Новосибирск, 630117, Россия

E-mail: medf@medf.nsu.ru

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЦИТОКИНОТЕРАПИИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ СПЛЕНОПИДОМ

В условиях *in vitro* изучена иммунокорректирующая активность цитокинового комплекса спленоид для восстановления Т-клеточной ареактивности и сбалансированной продукции Th1/провоспалительных и Th2/противовоспалительных цитокинов в культуре крови у больных с гастродуоденальными язвами. В подгруппе больных с ареактивностью Т-клеток спленоид усиливал пролиферативный ответ на анти-CD3, в то время как у пациентов с относительно сохраненной функциональной реактивностью Т-клеток прироста пролиферации не наблюдалось. Низкий уровень спонтанной продукции IFN- γ , IL-2, IL-12, IL-4, IL-13, GM-CSF значимо не менялся при добавлении спленоида, хотя уровень TNF- α возрастал в 2 раза при синхронном усилении спонтанной секреции IL-10. Продукция TNF- α усиливалась в культурах интактных клеток и снижалась в культурах клеток, активированных бактериальным эндотоксином.

Ключевые слова: язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, цитокины, иммунотерапия.

В различных странах инфицированность населения *Helicobacter pylori* (Hр) варьирует от 50 до 90 % случаев [1; 2]. У большинства людей отмечается бессимптомное носительство и только в 10–20 % случаев Hр-инфекция приводит к развитию гастродуоденита и образованию пептических язв [3; 4]. Именно поэтому высказывается предположение, что реализация патогенного действия Hр на слизистую оболочку желудка и двенадцатиперстной кишки во многом определяется дополнительными экзогенными и эндогенными факторами [2; 5; 6]. Среди них особое значение придается патогенным факторам возбудителя и нарушениям иммунитета, которые при определенных условиях и сочетаниях могут вызывать развитие ЯБ Ж [7]. Поэтому одним из направлений исследований стало изучение механизмов формирования адекватного иммунного ответа и его нарушения как причины развития и хронизации инфекции и неблагоприятного течения язвенной болезни.

Имеющиеся в литературе данные относительно механизмов иммунной защиты и роли иммунного ответа в патогенезе повреждений слизистой желудка пока далеко не полностью осмыслены и носят зачастую противоречивый характер.

Имеется множество фактов, свидетельствующих об участии иммунных механизмов в развитии повреждений слизистой оболочки, в том числе в ульцерогенезе [8; 9]. Так, продуцируемые Т-клетками IFN- γ и TNF- α могут оказывать прямой цитотоксический эффект на эпителиальные клетки. Кроме того, активация Т-клеток сопровождается усилением на Т-лимфоцитах экспрессии FasL, взаимодействие которого с Fas антигеном на эпителиальных клетках вызывает гибель последних по механизму апоптоза [10]. Опосредованный цитотоксический эффект также могут оказывать Th1 через активацию макрофагов, нейтрофилов и эозинофилов. Последние способны вызывать повреждение эпителия за счет высвобождения активных кислородных метаболитов.

литов, протеолитических ферментов и индукции апоптоза [11; 12]. Поскольку активность Th1 контролируется балансом с Th2, предполагается, что развитие клинических форм инфекции, и в первую очередь ЯБ, связано с дисрегуляцией, в частности ослаблением Th2-ответа и избыточной продукцией Th1-цитокинов. Следует, однако, признать, что данные относительно Th2 неоднозначны. Тем не менее Th2-ответ при Нр-инфекции, по-видимому, существует, о чем свидетельствует наличие гуморального иммунного ответа. Это подтверждено наличием в инфильтрате слизистой В-клеток и высоким титром IgG-, IgM- и IgA-антител в воспаленной СОЖ у инфицированных пациентов [8]. Согласно имеющимся данным, специфические антитела играют защитную роль при хеликобактерной инфекции, обладая способностью контролировать численность бактериальной популяции. Опсонизация бактерий IgG- и IgM-антителами усиливает их фагоцитоз и разрушение нейтрофилами [13].

Можно полагать, что наиболее эффективный иммунный ответ развивается при активации как Th1, так и Th2, и что наличие IgA-антител в слизистой является важным протективным компонентом иммунной защиты [14]. При этом нарушение оптимального баланса либо в одну (Th1), либо в другую (Th2) сторону приводит к нарушению равновесия между микро- и макроорганизмом. Из представленного следует, что проявление патогенных свойств хеликобактерной инфекции, а также отсутствие эффекта эрадикации возбудителя после антибактериальной терапии могут быть обусловлены дисфункциями иммунной системы. Поэтому методы иммунокоррекции должны стать неотъемлемой составляющей патогенетической терапии заболеваний ЖКТ, ассоциированных с Нр-инфекцией.

В наших предыдущих исследованиях особенностей иммунопатогенеза ЯБ [15] было обнаружено, что иммунные клетки крови больных характеризуются низкой исходной цитокин-секреторной активностью, хотя и сохраняют свою чувствительность к митогенной стимуляции, т. е. не находятся в состоянии функциональной анергии. В то же время дефицит продукции IL-13 и GM-CSF, выявленный у больных с ЯБ на базальном уровне, сохранялся и в ЛПС-

стимулированных культурах. Наиболее характерной цитокин-секреторной особенностью клеток больных с ЯБ оказалась их способность к активной продукции IL-10, который также относится к группе Th2/противовоспалительных цитокинов. В подавляющем большинстве случаев (81,0 %) уровень ЛПС-стимулированной продукции IL-10 в 2 и более раз превышал верхнюю границу диапазона нормативных значений, а в культурах интактных нестимулированных клеток крови больных с ЯБ регистрировалось трехкратное снижение индекса соотношения TNF- α / IL-10. Выявленный дисбаланс продукции про- и противовоспалительных цитокинов, в основном обусловленный гиперпродукцией IL-10, сохранялся и при стимуляции клеток липополисахаридом. Поскольку данный цитокин обладает широким спектром иммуносупрессорного действия, можно полагать, что усиленная его продукция клетками периферической крови является одним из механизмов развития у больных с ЯБ иммунных нарушений.

Учитывая полученные факты, представлялось важным на следующем этапе работы ответить на вопрос о существовании взаимосвязи между продукцией Th1/провоспалительных и Th2/противовоспалительных цитокинов и функциональной (пролиферативной) активностью Т-клеток при ЯБ.

Целью настоящего исследования явилось экспериментальное изучение иммунокорректирующей активности комплексного цитокинсодержащего препарата – спленопада, для восстановления Т-клеточной активности и сбалансированной продукции Th1/провоспалительных и Th2/противовоспалительных цитокинов в культуре *in vitro*.

Материал и методы

Исследование основано на результатах клинико-иммунологического обследования 55 больных с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, которые находились на стационарном лечении по поводу обострения заболевания в период 2004–2005 гг. Группа обследованных больных включала 41 мужчину (74,5 %) и 14 женщин (25,5 %) в возрасте от 16 до 81 года (средний возраст $38,0 \pm 6,0$ лет). У боль-

шинства больных (72,7 %) язвенный дефект был локализован в области двенадцатиперстной кишки, тогда как язвенная болезнь желудка была диагностирована у 15 пациентов (27,3 %). В сформированной группе 22 пациента (40,0 %) обследованы по поводу впервые выявленной язвенной болезни, в 60,0 % случаев заболевание имело хронический рецидивирующий характер. В 16 наблюдениях (29,0 %) ЯБ осложнилась кровотечением ($n = 10$), перфорацией ($n = 2$), а также длительно не рубцующимся язвенным дефектом ($n = 4$).

Диагноз ЯБ был верифицирован на основании клинико-эндоскопических данных. Всем больным проводилось стандартное клиническое обследование, включая общий и биохимический анализы крови, эзофагогастродуоденоскопию с оценкой изменений в слизистой оболочке и выявлением язвенных дефектов, размер которых варьировал от 0,5 до 4 см², а также исследование секреторной функции желудка.

Контрольную группу составили 60 здоровых лиц – доноров крови, сопоставимых по полу и возрасту.

Работа по протоколу исследования проводилась согласно Национальному стандарту Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика» (ГОСТ Р 52379-2005).

Исследование иммунитета. Из венозной цельной или гепаринизированной крови выделяли стандартными методами лейкозвесь, сыворотку, мононуклеарные клетки (МНК). МНК культивировали в планшетах для иммунологических исследований при 37 °С во влажной атмосфере, содержащей 5 % CO₂. Полная культуральная среда состояла из среды RPMI-1640, дополненной 10 % инактивированной сыворотки доноров АВ (IV) группы, 2 мМ HEPES-буфера, 0,3 мг/мл глутамина («Sigma», США) и гентамицином (100 мкг/мл). Количество МНК, вносимых в лунку, составляло $0,1 \times 10^6$ клеток в 0,15 мл культуральной среды.

Для стимуляции клеток использовали конканавалин А (КонА) («Sigma», США) в концентрации 15 мкг/мл или моноклональные анти-CD3-антитела ICO-90 (анти-CD3) («Медбиоспектр», Россия) в концентрации 1 мкг/мл. Интенсивность пролифе-

рации оценивали через 72 часа по включению в нуклеопротеидные фракции клеток 3H-тимидина, вносимого за 18 часов до окончания культивирования в дозе 1 мкКю на лунку. Подсчет радиоактивности материала производили в жидкостном сцинтиляционном счетчике SL-30 («Intertechnic», Франция). Результаты представляли в виде среднего счета (имп/мин) из трех идентичных культур. Рассчитывали индекс влияния (ИВКонА или ИВанти-CD3), который представлял отношение уровня пролиферативного ответа клеток в стимулированных культурах к уровню спонтанной пролиферации.

Определение концентрации цитокинов методом Bio-Plex анализа. Венозная гепаринизированная (20 ЕД/мл) кровь в объеме 1 мл смешивалась с 4 мл среды RPMI-1640 («Sigma», США), дополненной 0,3 мг/мл L-глутамина, 5 мМ HEPES-буфера и 100 мкг/мл гентамицина. Эти образцы крови (по 1 мл) культивировали в круглодонных стерильных пробирках в присутствии липополисахарида (ЛПС) *E. coli* 0111 : B4 («Sigma», США) в конечной концентрации 10 мкг/мл, а также в отсутствие митогенной стимуляции. Культивирование проводили при 37 °С в CO₂-инкубаторе 24 часа, после чего отбирали супернатанты по 0,2 мл и хранили полученные образцы при –20 °С до тестирования.

В отдельной серии экспериментов к спонтанным и ЛПС-стимулированным культурам клеток цельной крови добавляли препарат спленопид (140 мг) в конечном разведении 1/100. Оценку уровня продукции в таких условиях также определяли через 24 часа культивирования.

Спленипид относится к группе иммуномодуляторов и представляет собой пептидную фракцию, выделенную из ткани селезенки свиней или крупного рогатого скота (рег. номер 001938/01-2002, НИИ трансплантологии и искусственных органов МЗ РФ, Россия).

Содержание в супернатантах цельной крови 9-ти цитокинов (TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, GM-CSF) оценивали методом проточной флюориметрии на двухлучевом лазерном автоматизированном анализаторе («Bio-Plex Protein Assay System, Bio-Rad», США) с ис-

пользованием коммерческих тест-систем 9-Plex (определяемый динамический диапазон 2–32 000 пкг/мл) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Кратко: метод основан на специфическом связывании исследуемых цитокинов с твердой фазой, которая представляет собой суспензию полистироловых гранул размером 5,5 μm . Одновременно в анализе использовали 9 типов гранул, каждый из которых отличается собственной флюоресцентной меткой и конъюгирован с соответствующими моноклональными антицитокиновыми антителами. Постановка всех реакций происходила в 96-луночном планшетном формате. Оценка результатов проводилась на проточном флюориметре, где гранулы автоматически разделялись по типам с использованием их собственных FITC-меток, а количество связавшихся с ними цитокинов оценивалось по суммарной интенсивности флюоресценции фикоэритрина в образцах сыворотки и культуральных супернатантах цельной крови двумя независимыми экспериментальными сериями. При статистической обработке значения цитокинов, выходящие за нижнюю границу чувствительности метода (< 2 пкг/мл), принимались за 1 пкг/мл.

Статистическая обработка полученных результатов исследования проводилась методами описательной, параметрической и непараметрической статистики на компьютере с использованием программы Statistica 5.0. Сравнение вариационных рядов осуществлялось с помощью непараметрического U-критерия Вилкоксона–Манна–Уитни. Достоверность различия частоты встречаемости признака определяли, используя точный метод Фишера (pTMФ). Корреляционный анализ проводился методом ранговой корреляции Спирмана.

Результаты исследования и обсуждение

В предыдущих исследованиях особенностей иммунопатогенеза ЯБ нами установлено, что у 1/3 больных с ЯБ функциональная реактивность Т-клеток в ответ на стимуляцию через CD3-Т-клеточный рецепторный комплекс резко угнетена. Данное состояние мы обозначили как состояние «Т-клеточной ареактивности».

При оценке влияния спленоида на уровень пролиферации Т-клеток больных ЯБ в анти-CD3-стимулированных культурах было установлено, что в целом по группе происходит умеренное, хотя и статистически недостоверное, усиление анти-CD3-ответа в присутствии спленоида в конечном разведении 1/100 (ИБ $1,3 \pm 0,18$) (табл. 1).

В то же время корректирующий эффект препарата наиболее ярко проявлялся в подгруппе больных с ареактивностью Т-клеток, у которых пролиферативный ответ на анти-CD3 достоверно увеличивался в присутствии спленоида с $12\,110 \pm 1\,310$ имп/мин до $18\,790 \pm 1\,580$ имп/мин (ИБ $1,65 \pm 0,13$). В свою очередь, у пациентов с относительно сохранной функциональной реактивностью Т-клеток значимого прироста в уровне пролиферации не наблюдалось (ИБ $1,05 \pm 0,04$). Дополнительно была проведена оценка влияния спленоида на уровень спонтанной и ЛПС-индуцированной продукции цитокинов в культурах цельной крови больных с ЯБ ($n = 6$). Было установлено, что в условиях суточной инкубации клеток крови со спленопидом (140 мг) небольшие, но статистически достоверные, изменения в уровне продукции цитокинов регистрируются только в культурах интактных, не стимулированных эндотоксином клеток (табл. 2). В исследуемой группе больных выявился низкий уровень спонтанной продукции большинства анализируемых цитокинов (IFN- γ , IL-2, IL-12, IL-4, IL-13, GM-CSF), который значимо не менялся при добавлении спленоида. Тем не менее отмечалось двухкратное увеличение уровня TNF- α (в среднем с 18 до 36 пкг/мл). Прирост продукции TNF- α уравнивался усилением спонтанной секреции IL-10 (в среднем с 5 до 10,5 пкг/мл), поэтому достоверных изменений баланса про- и противовоспалительных цитокинов под влиянием спленоида выявлено не было. Медианные значения индекса соотношения TNF- α / IL-10 сохранялись на уровне 2,9–3,5 расч. ед. (против 7,4 расч. ед. – у здоровых доноров). В ЛПС-стимулированных культурах цельной крови больных с ЯБ достоверных различий в характере продукции цитокинов под влиянием спленоида не выявлено (табл. 3).

Таблица 1. Влияние спленоида на функциональную реактивность Т-клеток у больных с ЯБ в культуре *in vitro*

Группы больных	Анти-CD3, имп/мин	Анти-CD3 + спленопид, имп/мин	ИВ
Отсутствие ареактивности Т-клеток (n = 14)	30 850 ± 3 120	30 990 ± 2 920	1,05 ± 0,04
Наличие ареактивности Т-клеток (n = 7)	12 110 ± 1 310	18 790 ± 1 580*	1,65 ± 0,13
В целом по группе (n = 21)	24 770 ± 2 750	31 080 ± 2 580	1,3 ± 0,18

Примечание: * – $p_t < 0,05$ – достоверность различий показателей анти-CD3-стимулированного пролиферативного ответа в отсутствие и в присутствии спленоида (t-критерий Стьюдента для парных выборок).

Таблица 2. Влияние спленоида на спонтанную продукцию цитокинов клетками крови у больных с ЯБ

Цитокины	Спонтанная продукция цитокинов в цельной крови, пкг/мл		
	Доноры (n = 11)	Больные (n = 6)	
	0	0	Спленопид 1/100
IFN- γ	18,4 ± 4,7 (16,0)	2,9 ± 1,0 (1,6)	3,7 ± 1,2 (2,9)
IL-2	3,6 ± 1,5 (1,0)	3,1 ± 2,1 (1,0)	8,4 ± 3,6 (6,4)
TNF- α	19,2 ± 4,9 (15,6)	19,2 ± 3,7 (18,1)	36,9 ± 7,0 (39,0)*
IL-12 (p70)	3,2 ± 0,6 (3,5)	1,4 ± 0,4 (1,0)	1,4 ± 0,4 (1,0)
IL-4	5,6 ± 0,8 (6,0)	0,9 ± 0,1 (1,0)	0,8 ± 0,1 (1,0)
IL-5	1,0 ± 0,05 (1,0)	0,6 ± 0,05 (0,5)	0,5 ± 0,05 (0,5)
IL-10	1,7 ± 0,2 (1,6)	5,0 ± 0,5 (5,0)	9,6 ± 1,2 (10,5)*
IL-13	6,9 ± 1,8 (5,2)	1,2 ± 0,3 (1,0)	0,8 ± 0,1 (0,8)
GM-CSF	30,8 ± 7,8 (20,5)	3,5 ± 0,3 (3,2)	4,2 ± 0,8 (3,8)
TNF- α / IL-10	11,0 ± 2,7 (7,4)	3,2 ± 0,7 (2,9)	5,0 ± 1,8 (3,5)
IFN- γ / IL-4	3,4 ± 0,7 (2,6)	7,9 ± 3,6 (3,5)	5,8 ± 2,8 (3,3)

Примечание: в скобках – медианные значения показателя; * – $p < 0,05$ – достоверность различия уровня продукции цитокинов клетками больных в присутствии спленоида по сравнению с интактными культурами (U-критерий Вилкоксона–Мана–Уитни).

Таблица 3. Влияние спленоида на ЛПС-индуцированную продукцию цитокинов клетками крови у больных с ЯБ

Цитокины	ЛПС-индуцированная продукция цитокинов в цельной крови, пкг/мл		
	Доноры (n = 11)	Больные (n = 6)	
	ЛПС	ЛПС	ЛПС + спленопид
IFN- γ	177,0 ± 15,5 (171,0)	303,0 ± 113,0 (200,0)	250,0 ± 102,0 (198,0)
IL-2	9,0 ± 1,9 (7,3)	22,0 ± 9,6 (15,0)	17,0 ± 7,0 (11,8)
TNF- α	1 494,0 ± 251 (2 039,0)	3 474,0 ± 1 149,0 (2 472)	2 874,0 ± 1 338,0 (1 830,0)
IL-12 (p70)	8,2 ± 1,2 (9,1)	11,7 ± 5,6 (7,5)	5,8 ± 2,8 (2,6)
IL-4	13,9 ± 1,0 (13,7)	12,0 ± 4,0 (8,7)	11,5 ± 5,3 (7,2)
IL-5	1,1 ± 0,07 (1,1)	1,2 ± 0,2 (1,3)	1,0 ± 0,2 (1,0)
IL-10	92 ± 62 (17,8)	1 570,0 ± 315,0 (1 452,0)	1 452,0 ± 334,0 (1 426,0)
IL-13	9,8 ± 1,6 (8,6)	3,8 ± 0,7 (4,0)	3,3 ± 0,8 (4,0)
GM-CSF	112 ± 12,6 (104,0)	31,0 ± 10,0 (20,2)	29,5 ± 11,5 (20,5)
TNF- α / IL-10	149,0 ± 64 (74,0)	2,1 ± 0,7 (1,8)	2,1 ± 0,7 (1,7)
IFN- γ / IL-4	12,9 ± 0,7 (13,2)	25,0 ± 3,2 (21,0)	23,6 ± 3,2 (20,8)

Примечание: в скобках – медианные значения.

Несмотря на это, нами отмечено, что в присутствии спленоида уровень ЛПС-индуцированной продукции TNF- α снижался в среднем на 25 % (с 2 472 до 1 830 пкг/мл). В совокупности с данными, представленными в табл. 2, полученные

в исследованиях *in vitro* результаты показывают, что спленопид проявляет иммуномодулирующую активность, по крайней мере в отношении продукции TNF- α , которая может усиливаться под его влиянием в культурах интактных, нестимулирован-

ных клеток, и, наоборот, снижаться в культурах клеток, активированных бактериальным эндотоксином.

Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о целесообразности включения в комплекс лечебно-профилактических мероприятий у больных с обострением ЯБ иммуноотропных препаратов для своевременной коррекции существующих иммунных нарушений. Учитывая доказанный корригирующий эффект спленопада в отношении функциональной (пролиферативной) активности Т-клеток *in vitro* (см. табл. 1), патогенетически обосновано применение именно этого препарата в период обострения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. В дальнейших исследованиях будет дана оценка иммуноотропных эффектов спленопада в клинических условиях и охарактеризованы результаты лечения на основании изменения клинической картины заболевания, сроков и качества заживления язвенных дефектов.

Список литературы

1. Mitchell H. M. The epidemiology of *Helicobacter pylori* Bailliere's // Clin. Infect. Dis. 1997. Vol. 4. P. 257–281.
2. Marshall B. J. *Helicobacter pylori* // Am. J. Gastroenterol. 1994. Vol. 89. P. 116–128.
3. Cover T. L., Blaser M. J. *Helicobacter pylori*: a bacterial cause of gastritis, peptic ulcer disease, and gastric cancer // ASM News. 1995. Vol. 61. P. 21–25.
4. Veldhuyzen van Zanten S. J. O., Sherman P. M. *Helicobacter pylori* infection as a cause of gastritis, duodenal ulcer, gastric cancer and nonulcer dyspepsia: a systematic overview // Can. Med. Assoc. J. 1994. Vol. 150. P. 177–182.
5. О патогенной роли *Helicobacter pylori* / В. Т. Ивашкин, С. Д. Положенцев, В. К. Султанов и др. // Тер. архив. 1993. Т. 65, № 2. С. 11–13.
6. Клинико-иммунологические параллели у больных язвенной болезнью геликобактерного генеза / А. С. Луняков, В. Ф. Гончаренко, М. А. Бутов и др. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 1998. № 5. Прил. 5. С. 50.
7. The role of the local immune response in the pathogenesis of peptic ulcer formation / P. B. Ernst, Y. Jin, V. E. Reyes et al. // Scand. J. Gastroenterol. 1994. Vol. 29. P. 22–26.
8. Lymphocytes in the human gastric mucosa during *Helicobacter pylori* have a T helper cell 1 phenotype / K. B. Bamford, X. J. Fan, S. E. Crowe et al. // Gastroenterology. 1998. Vol. 114. P. 482–492.
9. T helper 1 effector cells specific for *Helicobacter pylori* in the gastric antrum of patients with peptic ulcer disease / M. M. Delios, M. Manghetti, M. Decarli et al. // J. Immunol. 1997. Vol. 158. P. 962–967.
10. Role of gamma interferon in *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammatory responses in a mouse model / N. Sawai, M. Kita, T. Kodama et al. // Infect. Immun. 1999. Vol. 67. P. 279–285.
11. Different cytokine profile and antigen-specificity repertoire in *Helicobacter pylori*-specific T cell clones from the antrum of chronic gastritis patients with or without peptic ulcer / M. M. D'Ellos, M. Manghetti, F. Almerigogna et al. // Eur. J. Immunol. 1997. Vol. 27. P. 1751–1755.
12. Eosinophil infiltration and degranulation in *Helicobacter pylori*-associated chronic gastritis / T. W. McGovern, N. J. Talley, G. M. Kephart et al. // Dig. Dis. Sci. 1991. Vol. 36. P. 435–440.
13. Tosi M. F., Czinn S. J. Opsonic activity of specific human IgG against *Helicobacter pylori* // J. Infect. Dis. 1990. Vol. 162. P. 156–162.
14. Ernst P. B., Pappo J. T-cell-mediated mucosal immunity in the absence of antibody: Lessons from *Helicobacter pylori* infection // Acta Odontol. Scand. 2001. Vol. 59. P. 216–221.
15. Характеристика апоптоза и функциональной активности лимфоцитов у больных язвенной болезнью / А. А. Останин, А. И. Пальцев, А. И. Лебедев и др. // Бюл. СО РАМН. 2004. № 12. С. 127–134.

A. V. Vasylychenkov, S. D. Nikonov, E. R. Chernych, A. A. Ostanin, A. G. Lebedev

Experimental founding of cytokine therapy of gastroduodenal ulcers by splenopid

Immunomodulating activity of cytokine complex splenopid was investigated in vitro for repairing T-cell areactivity and balanced production Th1 / Th2 cytokines in blood cultures of patients with gastroduodenal ulcers. In subgroup with areactive T-cells splenopid increased proliferation on anti-CD3, but in cases with normal function of T-cells increased proliferation did not registered. Splenopid did not significantly changed low level of spontaneous production of IFN- γ , IL-2, IL-12, IL-4, IL-13, GM-CSF, but the level of spontaneous TNF- α production increased two times as well as increased spontaneous secretion of IL-10. Production of TNF- α increased in cultures of intact cells and decreased in cultures, activated by bacterial endotoxin.

Keywords: gastroduodenal ulcers, cytokines, immunotherapy.